

*Aus dem Institut für Histologie und experimentelle Biologie
der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. Benno Romeis)*

Über die antithyreoidale Wirksamkeit einiger Serumeiweißfraktionen im Kaulquappenversuch*

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Rudolf Mayer

aus München

1958

* Herrn Prof. Dr. Benno Romeis zum 70. Geburtstag gewidmet.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Dozent Dr. *R. Wetzstein*

Mitberichterstatter: Prof. Dr. *B. Romeis*

Dekan: Prof. Dr. *W. Büngeler*

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Mai 1958

Aus dem Institut für Histologie und experimentelle Biologie der
Universität München
(Direktor: Prof. Dr. B. Romeis)

Über die antithyreoidale Wirksamkeit einiger Serum- eiweißfraktionen im Kaulquappenversuch*

Von Rudolf Mayer

Mit 4 Abbildungen

Eingegangen am 15. August 1958

Einleitung

Ausgehend von der Überlegung, daß das Myxoedem das Gegenstück zur Basedow'schen Krankheit darstellt, haben bereits 1895 *Ballet* und *Enriquez* die Behandlung des Morbus Basedow mit dem Serum schildrüsenloser Tiere versucht. In Versuchen an Meerschweinchen konnte *Blum*⁵ 1906 nachweisen, daß auch das Blut gesunder Tiere eine antithyreoidale Schutzwirkung besitzt. *Romeis*³⁸ prüfte 1916 die Wirksamkeit der Trockenblutpräparate „Antithyreoidin *Moebius*“ und „Rodagen“ im Kaulquappenversuch. Beide Präparate erwiesen sich bei schwach thyreoidisierten Tieren dann als wirksam, wenn sie gleichzeitig mit der Thyreoideafütterung oder an diese anschließend gegeben wurden, während im Falle einer Vorbehandlung oder bei stärkerer Thyreoidisierung eine Schutzwirkung ausblieb. *Romeis*³⁹ hat auch 1923 als erster die antithyreoidale Wirkung des normalen Blutes im Kaulquappenversuch einer genauen Untersuchung unterzogen. In die Blutbahn von Kaninchen oder Ratten gebracht, wird Thyroxin sehr rasch verändert und unschädlich gemacht; wenige Minuten nach der Injektion entnommenes Blut verursacht im Kaulquappenversuch keinen Schilddrüseneffekt. Wird eine Thyroxinlösung in vitro mit frischem Blut versetzt, so wird bei kurzer Einwirkungsdauer ihre Wirksamkeit deutlich abgeschwächt; bereits nach 1—2 Stunden ist das Gemisch stark toxisch. *Romeis* fand sowohl das Serum wie auch die gewaschenen Erythrocyten antithyreoidal wirksam; allerdings dürfte es sich bei letzteren um einen Absorptionsvorgang handeln.

Entsprechende Befunde wurden mit verschiedenen Methoden an Warmblütern erhoben: *Sainton* und *Simonnet*⁴², *Giacomini*¹⁹ (Federkleid der Hühner),

* Herrn Professor Dr. B. Romeis zum 70. Geburtstag gewidmet.

*Starlinger*⁴⁵, *Oberdisse* und *Thaddea*³² (Grundumsatz bzw. CO₂-Produktion), *Wittgenstein*⁵³ (Glykogenverarmung der Leber), *Blum*^{6, 7}, *Anselmino* und *Hoffmann*³ (Gewichtskurve bzw. Stoffwechselversuch), *Fellinger*¹⁶ (Acetonitrilresistenz der Maus). *Sonne*⁴⁷ fand allerdings beim Meerschweinchen keine Aufhebung der Thyroxinwirkung auf Gewichtskurve und Acetonitrilresistenz.

Die Versuche verschiedener Autoren, die Natur dieser im Blut enthaltenen antithyreoidalen Schutzwirkung aufzuklären, haben zu Ergebnissen geführt, die teilweise recht voneinander abweichen.

Nach *Blum*⁸ habe die Thyreoidektomie keinen Einfluß auf die antithyreoidale Schutzkraft des Blutes, doch sei diese bei Basedowikern vermindert. Er hält das Plasma für den Hauptträger derselben, wenngleich das Gesamtblut noch etwas stärker wirke als das Plasma allein. Seine Vermutung, das Parathormon sei der Träger der antithyreoidalen Wirkung, konnte nicht bestätigt werden (*Gefner*¹⁸).

Für die Beurteilung der Wirkungsweise des antithyreoidalen Blutfaktors sind die Versuchsergebnisse von *Levit* u. Mitarb.²⁷ von Bedeutung: Der Ablauf der durch Schilddrüsenstoffe verursachten Metamorphose von Axolotl konnte in etwa einem Drittel der Fälle durch Zugabe von getrocknetem defibriniertem Blut schilddrüsenloser Hammel oder auch von normalem Ochsenblut gehemmt werden, wenn Schilddrüsenstoff und Blut zusammen dem Lebewasser der Tiere zugesetzt wurden. Wurde hingegen nur der Schilddrüsenstoff zugesetzt und das Blut verfüttert, so war ein sicherer Einfluß auf die Metamorphose nicht zu beobachten. Wurden Schilddrüsenstoff und Blut durch direkte Einführung in den Mund der Axolotl abwechselnd in zeitlichen Zwischenräumen so verabreicht, daß Schilddrüsenstoff und Blut innerhalb des Verdauungskanal möglichst nicht zusammentrafen, so war eine Metamorphosehemmung nicht feststellbar. Bei gleichzeitiger peroraler Verfütterung von Schilddrüsenstoff und Blut jedoch wurde die Metamorphose stark gehemmt. Es scheint also diesen Ergebnissen ein Vorgang außerhalb des Organismus bzw. innerhalb des Verdauungskanal der Versuchstiere zugrunde zu liegen.

Guerber und *Gefner*²¹ berichten über die wirksame Substanz, daß sie beim Trocknen erhalten bleibe, in organischen Lösungsmitteln wie Alkohol und Äther unlöslich sei und nicht dialysiere. Sie sei mit dem Eiweiß fällbar, wobei der Euglobinfraktion eine besondere Wirksamkeit zukomme. Belichten und Erhitzen auf 56° schwäche ihre Wirkung nicht ab.

Gefner, der bereits 1926¹⁷ über die völlige Hemmung sowohl der natürlichen als auch der thyroxinbedingten Metamorphose von Salamander- und Krötenlarven durch Antithyreoidin *Moebius* berichtet hatte, veröffentlichte 1932¹⁸ die Ergebnisse weiterer Versuche über die antithyreoidale Schutzkraft von Blut und Blutbestandteilen. Dabei wurden *Bufo vulgaris*-Larven für 2—24 Stunden in eine Thyradenlösung gebracht und dann die auf ihre antithyreoidale Wirkung zu prüfenden Substanzen für 7—9 Tage dem Lebewasser der Tiere zugesetzt. Sowohl Frischblut wie auch gewaschene Blutkörperchen und Hämkrynin in Konzentrationen bis etwa 1:500 wirkten metamorphosehemmend. Eine durch den Blutzusatz eintretende Verschiebung des pH-Wertes konnte als Ursache der Metamorphosehemmung ausgeschlossen werden. Da auch Hämglobin und Eisen in Form von FeO und Fe₂O₃ (in Konzentrationen von 0,1—0,0001 g auf 100 ccm Wasser) sowie — entgegen Angaben von *Zondek* und *Reiter*⁵⁴ — KCl (in Konzentrationen von 1:2000—1:7500), ferner Thymus-extrakt und Calcium metamorphosehemmend wirkten, kam *Gefner* zu der Ansicht, daß die antithyreoidale Wirkung des Blutes nicht an einen bestimmten Blutbestandteil gebunden ist, sondern die Summe der Wirkungen mehrerer im Blut enthaltener Stoffe darstellt.

Anselmino und Hoffmann³ kamen bei Grundumsatzversuchen an jungen Ratten zu der Ansicht, daß der Schutzstoff des Blutes so gut wie ausschließlich im Serum enthalten sei, Lipoidcharakter habe und durch Extraktion mit einem Äther-Alkohol-Gemisch auf das 100fache konzentriert werden könne. Auch lasse sich der Schutzstoff mit KOH verseifen. Die Autoren fanden weiters, daß die antithyreoidale Schutzkraft von Foetalblut etwas stärker ist als die von Normalblut, während Basedowiker- und Schwangerenblut in weit geringerem Maße wirksam sind. Auch Tierblut zeigte in den Versuchen eine etwas geringere Wirkung. Es wurden ferner Organextrakte untersucht, wobei vor allem solche aus Knochenmark, schwächer solche aus Ovarien, Leber, Gehirn, Pankreas und Muskeln antithyreoidal wirksam waren. Auch die durch thyreotropes Hormon hervorgerufene Grundumsatzsteigerung ließ sich mit der gewonnenen Schutz-Substanz unterdrücken. Nach Ansicht der Verfasser enthalten Hämokrinin und Antithyreoidin *Moebius* viel zu wenig Schutzstoff, um eine sichere therapeutische Wirkung bei Morbus Basedow zu zeitigen.

1933 teilte Saegesser⁴¹ ähnliche Versuchsergebnisse mit. Er konnte bestätigen, daß das Serum von Basedowkranken kaum eine antithyreoidale Wirkung entfaltet, während Athyreatenserum und Kretinenserum gut wirken und normales Serum eine Mittelstellung einnimmt. Auf der Suche nach dem wirksamen Prinzip wurden dann verschiedene Blutbestandteile im Kaulquappenversuch geprüft: Die Eiweißkörper in toto, das enteiweißte Serum, die verschiedenen Eiweißfraktionen sowie Äther- und Alkoholextrakte von Serum, Gesamtblut und Blutkuchen. Eine Schutzwirkung der Eiweißkörper, in toto oder fraktioniert verfüttert, gegenüber der die Metamorphose beschleunigenden Wirkung von Thyroxin konnte dabei nicht festgestellt werden. Durch die Euglobin-Fraktion wurde die Thyroxinwirkung im Gegenteil eher verstärkt. Dagegen ergaben Versuche mit Äther-Alkoholextrakten aus dem Gesamtblut und vor allem aus dem Blutkuchen eine deutliche Hemmung der Thyroxinwirkung. Auch Cholesterin, in Olivenöl gelöst, erwies sich als antithyreoidal wirksam. Durch die Zugabe von Cholesterin zum Serum konnte dessen Schutzkraft beliebig gesteigert werden.

Blum¹⁰ prüfte diese Ergebnisse von Anselmino und Hoffmann und Saegesser nach und konnte sie nicht bestätigt finden. Cholesterin und Lipide aus dem Blut zeigten bei ihm weder im Kaulquappenversuch noch im exakten Stoffwechselversuch eine antithyreoidale Wirkung. Nach Blums neueren Untersuchungen ist der antithyreoidal wirksame Blutbestandteil, das Katechin, eine wasserlösliche, hitzebeständige, nicht oder nur außerordentlich langsam und schwierig zu dialysierende Substanz. Es werde wahrscheinlich in der Leber gebildet, mit der Milch und im Harn ausgeschieden und sei durch die genannten Eigenschaften einer weitgehenden Reinigung und Konzentration fähig. Mit dem Vitamin A, dem auch eine gewisse antithyreoidale Eigenschaft zukomme, sei das Katechin nicht identisch.

Ebenfalls 1933 kam Eufinger¹⁵ in Kaulquappenversuchen zu dem Ergebnis, daß die antithyreoidale Schutzkraft im wesentlichen an die Bluteiweißkörper gebunden ist. Er konnte die durch eine Gabe von 3 γ Thyroxin hervorgerufene Metamorphose durch jeweils 3 ccm Vollblut, Blutplasma oder Eiweißrest deutlich hemmen. Auch 3 ccm Erythrocyten wirkten metamorphosehemmend, während durch 3 ccm Ultrafiltrat, Elektroultrafiltrat oder Anionen des Blutes die Thyroxinwirkung kaum beeinträchtigt wurde. Das Vitamin A-Präparat Vogan hingegen wirkte stark antithyreoidal. Eufinger lehnt daher die übliche Fütterung der Kaulquappen mit Leber wegen deren hohem Vitamin A-Gehalt ab. Es konnte ferner bestätigt werden, daß das sub partu entnommene Blut ebenso wie das von Patientinnen mit einer Schwangerschaftsnephropathie in seiner antithyreoidalen Schutzwirkung stark vermindert ist. Gibt man jedoch 14 Tage lang vor der Niederkunft Vogan, so bleibt die Schutzkraft des Blutes erhalten.

Neben dieser antithyreoidalen, d. h. gegen das Schilddrüsenhormon selbst gerichteten Komponente besitzt das normale Blut auch noch eine Schutzwirkung gegen das thyreotrope Hormon. So konnten z. B. *Eitel* und *Loeser*¹⁴ experimentell am Meerschweinchen durch Zufuhr von thyreotropem Hormon eine Basedow-Schilddrüse mit dem typischen histologischen Befund erzeugen. Gaben sie jedoch zusätzlich Blut oder ein entsprechendes Präparat (Thyronorman), so wurde diese Wirkung des thyreotropen Hormons vollständig aufgehoben. *Simon*⁴⁶ konnte zeigen, daß auch die normale Schilddrüse sich durch den antithyreotropen Wirkstoff beeinflussen läßt. Diese antithyreotrope Schutzkraft des Blutes läßt sich durch Injektion von thyreotropem Hormon über längere Zeit verstärken, während sie dem Blute schilddrüsenloser Tiere fehlt. Der ihr zugrunde liegende Hemmstoff ist streng spezifisch gegen das thyreotrope Hormon. Nach *Collip* wird der antithyreotrope Schutzstoff als thyreotropes Antihormon bezeichnet.

Näheres über die Eigenschaften und die Wirkungsweise dieser Substanz hat *Loeser*²⁹ veröffentlicht. Bezüglich der Antihormontheorie *Collips* sei auf das umfassende Sammelreferat von *Collip*, *Selye* und *Thompson*¹² sowie auf die Arbeiten von *Thompson*⁵¹ und *Gnann* und *Spiegelhoff*²⁰ verwiesen.

Es mag bei Versuchen an Warmblütern wie Grundumsatzbestimmung, Beobachtung des Glykogengehalts der Leber, Prüfung der Acetonitrilresistenz u. ä. nicht immer leicht sein, zu entscheiden, ob es sich um eine rein antithyreoidale Wirkung handelt oder ob auch eine antithyreotrope Komponente mit hereinspielt. Im Kaulquappenversuch jedoch, wo durch Gabe von Thyroxin oder Schilddrüsensubstanz eine verfrühte Metamorphose angeregt bzw. deren Eintreten durch Verabreichung von antithyreoidalem Schutzstoff verhindert wird, kommt eine Verschleierung der Versuchsergebnisse durch eine etwa gleichzeitig vorhandene antithyreotrope Wirkung der zu untersuchenden Substanzen nicht in Betracht.

Was die Behandlung der Hyperthyreosen und des Morbus Basedow mit aus Blut gewonnenen Präparaten anbelangt, so liegen zahlreiche Berichte über teilweise recht günstige Ergebnisse vor. Im Jahre 1901 gelang es *Moebius*, Basedow-Kranke durch Verabreichung von Blut zu heilen. *Blum*⁸ berichtete 1929 über die Heilung von Basedow-Kranken durch Behandlung mit dem Trockenblutpräparat Hämokrinin in Verbindung mit einer fleischlosen, gemüse- und milchreichen Diät, der sogenannten *Blumschen* Schutzkost.

Ähnliche günstige Ergebnisse liegen u. a. vor von *Herzfeld*²², *Neidhardt* und *Schroeck*³⁰, *Nossen*³¹, *Baumann*⁴, *Schneider* und *Widmann*⁴⁴, *Riedl*³⁶, *Senk-bach*⁴⁵ und *Loeffler*²⁸.

Angesichts der Tatsache, daß von der Mehrzahl der Autoren die Eiweißkörper des Blutes für den Hauptträger der antithyreoidalen Schutzkraft gehalten werden und der durch die Entwicklung der modernen Elektrophoresemethoden gegebenen Möglichkeit, die einzelnen Eiweißfraktionen des Serums in weitgehend reiner Form zu erhalten, lag es nahe, dieselben auf ihre antithyreoidale Wirksamkeit zu prüfen.

Material und Methode

In der vorliegenden Arbeit wurden Humanalbumin, Rinderserumalbumin und γ -Globulin vom Rind im Kaulquappenversuch geprüft. Es handelte sich dabei um Produkte der Behring-Werke, Marburg, sämtlich mit der Bezeichnung „reinst“ versehen. Die anderen Fraktionen (α - und β -Globulin) standen leider nicht in genügender Menge zur Verfügung.

Als Versuchstiere dienten *Rana temporaria*-Larven. Die im März 1955 frisch von einem Froschfänger aus Dachau bezogenen Laichballen wurden mit der Schere zerschnitten und so auf mehrere Becken von 75 l Inhalt verteilt, daß sich in jedem etwa 500 Eier gleicher Herkunft befanden.

Nach dem Ausschlüpfen wurden die Tiere 1–2 mal in der Woche mit Brennesselpulver gefüttert. Das extra fein gemahlene Pulver wurde in einer Reibschale mit warmem Wasser angerührt und diese Aufschwemmung auf die einzelnen Becken verteilt. Durch ständiges langsames Nachlaufen von frischem Leitungswasser wurde die Temperatur in den Becken auf 14–16° C gehalten und so die natürliche Entwicklung der Tiere stark gebremst, so daß bis Mitte Juli noch brauchbare Versuchstiere zur Verfügung standen. Für die Versuche wurde dann eine entsprechende Anzahl von Tieren aus einem der Becken genommen, gemessen und gleich lange Exemplare in Gruppen von je 10–20 Stück auf Glasschalen mit 400 ccm Wasser verteilt. Um die Wassertemperatur konstant zu halten, wurden die Schalen im Wasserbad aufgestellt, das bei stärkerem Rückgang der Außentemperatur elektrisch geheizt wurde. Zum Wasserwechsel, der während der Zugabe der Teststoffe täglich, nachher alle zwei Tage erfolgte, wurde abgestandenes und temperiertes Leitungswasser verwendet.

Um die durch die Zugabe der zu testenden Eiweißstoffe bedingte Ernährungsdifferenz möglichst auszugleichen, wurden alle Tiere während der Versuche reichlich mit Brennesselpulver gefüttert. Die Fütterung erfolgte jeweils im Anschluß an den Wasserwechsel. Nach 1–2 Tagen Anpassungszeit an die neuen Lebensbedingungen wurden die Tiere gewogen und unmittelbar darauf Thyroxin und die zu testenden Substanzen zugesetzt.

In Vorversuchen hatte sich eine Thyroxindosierung von 40 γ auf 400 ccm Lebewasser über 2–3 Tage bewährt, was einer Thyroxinkonzentration von 1 : 10 Millionen entspricht. Es wurden dabei 4 ccm einer alkalischen Lösung von 1 : 100 000 (1 Ampulle Thyroxin „Roche“ auf 100 ccm verdünnte NaOH) gegeben. An dieser Dosierung wurde bei allen Versuchen festgehalten. Die zu testenden Eiweißstoffe wurden im Reagenzglas in Wasser von etwa 40° C gelöst und dann den betreffenden Schalen zugesetzt.

Als Kriterium für die Thyroxinwirkung bzw. deren Hemmung dienten das Durchschnittsgewicht und die Körperlänge sowie die charakteristischen Formveränderungen. Die Gewichtsbestimmung erfolgte nach der von Romeis⁴⁰ angegebenen Methode, und zwar unmittelbar vor der ersten Behandlung mit den Teststoffen, am ersten Tag nach Beendigung derselben und dann alle 2–3 Tage bis zum Ende der Versuche. Sie ist der empfindlichste Nachweis der Thyroxinwirkung an Kaulquappen.

Zur Längenmessung wurden die Tiere vor Beginn und am Ende der Versuche auf eine Glimmerplatte mit unterlegtem Millimeterpapier gebracht und so die Körperlängen abgelesen. Bei der Schlußmessung wurden die Tiere narkotisiert, während bei Versuchsbeginn auf eine Narkose verzichtet wurde, um die Tiere möglichst wenig zu schädigen. Außerdem wurden die Tiere am Ende der Versuche in narkotisiertem Zustand photographiert und anschließend zwecks späterer histologischer Untersuchung nach Bouin fixiert.

Die in Versuch 2 vorgenommenen Messungen des pH-Wertes des Lebewassers der Tiere erfolgten mit einem Ionometer mit Chinhydronelektrode.

Versuche

Versuch 1

Fragestellung: Können Serumalbumin oder γ -Globulin vom Rind in einer Dosierung von 300 bzw. 100 mg bei dreitägiger Verabreichung die Wirkung von 40 γ Thyroxin ausgleichen?

Anordnung: 8 Gruppen zu je 15 Tieren. Teststoffe und Thyroxin werden dreimal verabreicht.

Gr. 1:	300 mg Rinderserumalbumin	(Al)
„ 2:	300 mg Rinderserumalbumin + 40 γ Thyroxin	(Al + Tx)
„ 3:	unbehandelte Kontrollen	(Ko)
„ 4:	100 mg γ -Globulin v. Rind	(Gl)
„ 5:	40 γ Thyroxin	(Tx)
„ 6:	40 γ Thyroxin	(Tx)
„ 7:	100 mg γ -Globulin v. Rind + 40 γ Thyroxin	(Gl + Tx)
„ 8:	100 mg unbehandelte Kontrollen	(Ko)

Versuchsverlauf:

16. 5. Wassertemperatur 17° C. Wägung, Fütterung und Zusatz der Teststoffe. — 17. 5. W.t. 17° C. In Gruppe 4 zwei Tiere tot. Wasserwechsel, Fütterung, Teststoffzusatz. — 18. 5. W.t. 19° C. In Gruppe 8 ein Tier, in Gruppe 2 sechs Tiere tot. Wasserwechsel, Fütterung, Teststoffzusatz. — 19. 5. 1. Kontrollwägung. W.t. 18° C. Wasserwechsel, Fütterung. — 21. 5. 2. Kontrollwägung. W.t. 18° C. In Gruppe 7 ein Tier tot. Bei den Thyroxingruppen (Gruppe 5 und 6) ist jetzt eine deutliche Wirkung zu erkennen: die Tiere sind geigenartig verformt und deutlich kleiner als die unbehandelten Kontrollen; in der Ausbildung und Differenzierung der hinteren Extremitäten haben sie vor diesen einen großen Vorsprung. Ganz ähnlich ist der Befund bei den Thyroxin- + γ -Globulin-Tieren (Gruppe 7), während bei den Thyroxin- + Albumin-Tieren (Gruppe 2) diese Veränderungen nicht zu beobachten sind. Wasserwechsel und Fütterung. — 23. 5. 3. Kontrollwägung. W.t. 18° C. In Gruppe 5 sind vier, in Gruppe 7 fünf, in Gruppe 6 sechs Tiere tot. Wasserwechsel und Fütterung. — 25. 5. 4. Kontrollwägung. W.t. 20° C. In Gruppe 5 sind fünf, in Gruppe 7 vier Tiere tot. Photographieren der Tiere in Urethannarkose (Abb. 1 a—d); anschließend Längenmessung.

Tabelle 1

Gruppe	Beh.	16. 5.	19. 5.	21. 5.	23. 5.	25. 5.
Gr. 1	Al	149 (15)	173 (15)	192 (15)	208 (15)	234 (15)
Gr. 2	Al + Tx	149 (15)	142 (9)	142 (9)	158 (9)	181 (9)
Gr. 3	Ko	148 (15)	172 (15)	194 (15)	214 (15)	238 (15)
Gr. 4	Gl	149 (15)	169 (13)	194 (13)	211 (13)	236 (13)
Gr. 5	Tx	134 (15)	119 (15)	101 (15)	92 (11)	88 (6)
Gr. 6	Tx	147 (15)	142 (15)	116 (15)	102 (9)	96 (9)
Gr. 7	Gl + Tx	143 (15)	148 (15)	135 (14)	123 (9)	119 (5)
Gr. 8	Ko	144 (15)	165 (14)	193 (14)	212 (14)	229 (14)

Durchschnittsgewicht eines Tieres der betreffenden Gruppe in Milligramm, Zahl der gewogenen Tiere in Klammer

Tabelle 2

Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8
31,3	29,6	31,1	31,4	21,2	22,0	24,9	31,1

Durchschnittliche Gesamtlänge in den einzelnen Gruppen am Ende des Versuches (Ausgangslänge aller Tiere: 26 mm)



Abb. 1 Versuch 1. — a) Gr. 3 (unbehandelte Kontrollen). — b) Gr. 2 (300 mg Rinderserumalbumin + 40 γ Thyroxin). — c) Gr. 5 (40 γ Thyroxin). — d) Gr. 7 (100 mg γ -Globulin v. Rind + 40 γ Thyroxin). — Hier, wie in den folgenden Abbildungen, sind jeweils drei für eine Gruppe charakteristische Tiere wiedergegeben.

Besprechung der Ergebnisse von Versuch 1:

(Tab. 1, 2, Abb. 1 a—d):

Bei der Thyroxin-Dosierung von 40 γ über 3 Tage trat erwartungsgemäß bei den Tieren eine starke Reaktion ein, bestehend in einem massiven und anhaltenden Gewichtssturz, verbunden mit einer Reduktion des Schwanzes und den charakteristischen Veränderungen der Körperform (s. Abb. 1 c).

Durch gleichzeitige Gabe von 300 mg Rinderserumalbumin konnte die Thyroxinwirkung weitgehend abgeschwächt werden: Nach 10 Tagen hatten die Tiere der Gruppe 2 (s. Abb. 1 b), ähnlich wie die unbehandelten Kontrollen (s. Abb. 1 a), an Länge zugenommen und unterschieden sich auch in ihrer Gestalt kaum von diesen. Nur die Wägung zeigte bis zum 4. Tag eine geringe Gewichtsabnahme an, von der sich aber die Tiere in den folgenden Tagen rasch erholten, ganz im Gegensatz zu den Thyroxin-Tieren, bei denen das Gewicht bis zum Ende des Versuchs am 10. Tag laufend weiter abfiel.

Bei den mit Thyroxin + γ -Globulin behandelten Tieren war eine sichere Abschwächung der Thyroxinwirkung nicht festzustellen. Sie zeigten eine ständige Gewichtsabnahme, wenn auch nicht ganz so stark wie die Thyroxin-Tiere. Ebenso traten die typischen Veränderungen der Körperform und die Resorption des Schwanzes ein (s. Abb. 1 d).

Bemerkenswert ist die weitgehende Übereinstimmung der mit Albumin oder γ -Globulin allein behandelten Tiere mit den unbehandelten Kontrollen in Gewicht, Länge und Gestalt, was beweist, daß bei der reichlichen Ernährung mit Brennesselpulver eine alimentäre Wirkung der Eiweißstoffe nicht spürbar in Erscheinung tritt.

Versuch 2

Fragestellung: 1. Läßt sich die in Versuch 1 beobachtete antithyreoidale Wirkung von Rinderserumalbumin reproduzieren? 2. Wirkt γ -Globulin vom Rind auch in höherer Dosierung nicht antithyreoidal? 3. Wirkt Humanalbumin ebenso wie Serumalbumin vom Rind?

Anordnung: 10 Gruppen zu je 20 Tieren. Teststoffe und Thyroxin werden dreimal verabreicht.

Gr. 1:	400 mg Rinderserumalbumin	+ 40 γ Thyroxin	(Al + Tx)
„ 2:	400 mg γ -Globulin v. Rind	+ 40 γ Thyroxin	(Gl + Tx)
„ 3:	400 mg Humanalbumin	+ 40 γ Thyroxin	(Hu + Tx)
„ 4:	40 γ Thyroxin		(Tx)
„ 5:	40 γ Thyroxin		(Tx)
„ 6:	400 m Rinderserumalbumin		(Al)
„ 7:	400 mg γ -Globulin v. Rind		(Gl)
„ 8:	unbehandelte Kontrollen		(Ko)
„ 9:	unbehandelte Kontrollen		(Ko)
„ 10:	400 mg Humanalbumin		(Hu)

Versuchsverlauf:

15. 6. Wassertemperatur 21° C. Wägung, Fütterung und Zusatz der Teststoffe. — 16. 6. W.t. 20° C. Es sind in fast allen Gruppen einige Tiere tot: In Gruppe 1 drei, in Gruppe 2 eines, in Gruppe 3 zwei, in Gruppe 5 zwei, in Gruppe 6 eines, in Gruppe 7 eines, in Gruppe 8 eines und in Gruppe 10 zwei. Eine Ursache für dieses Sterben konnte nicht ermittelt werden. Wasserwechsel, Fütterung und Zusatz der Teststoffe. Unmittelbar anschließend Messung des pH-Wertes in den einzelnen Schalen. — 17. 6. W.t. 20° C. Zweite Messung des pH-Wertes in allen Gruppen. Anschließend Wasserwechsel, Fütterung und Teststoffzusatz. — 18. 6. 1. Kontrollwägung. W.t. 20° C. Es sind wieder einige Tiere gestorben: In Gruppe 1 eines, in Gruppe 3 sechs, in Gruppe 6 fünf, in Gruppe 7 zwei, in Gruppe 9 eines und in Gruppe 10 zwei. Bei den Tieren der Gruppe 2 (Thyroxin + γ -Globulin), 4 und 5 (Thyroxin) ist bereits deutlich eine geigenartige Verformung zu erkennen. Wasserwechsel, Fütterung. — 20. 6. 2. Kontrollwägung. W.t. 23° C. In Gruppe 2 ein Tier, in Gruppe 4 vier, in Gruppe 5 fünf Tiere tot. Bei allen Tieren, die mit Thyroxin behandelt worden sind (Gruppe 1, 2, 3, 4 und 5), sind die Hinterbeine in Oberschenkel, Unterschenkel und Fußplatte mit Zehen differenziert. Die geigenartige Verformung der Thyroxintiere (Gruppe 4 und 5) hat sich weiter verstärkt, während die Tiere von Gruppe 1 und 3 (Thyroxin + Rinderserumalbumin bzw. Thyroxin + Humanalbumin) ganz den unbehandelten Kontrollen gleichen. Die Tiere der Gruppe 2 (Thyroxin + γ -Globulin) unterscheiden sich kaum von den Thyroxintieren. Wasserwechsel, Fütterung. — 21. 6. W.t. 20° C. In Gruppe 2 sind sieben, in Gruppe 4 sechs und in Gruppe 5 vier Tiere gestorben. Die toten Tiere zeigen starke Metamorphoseerscheinungen; bei allen sind die Vorderbeine durchgebrochen. — 22. 6. 3. Kontrollwägung. W.t. 20° C. In Gruppe 2 zwei, in Gruppe 4 und 5 je ein Tier tot. Wasserwechsel, Fütterung. — 23. 6. W.t. 19° C. In Gruppe 2 sind wieder fünf, in Gruppe 4 und 5 je zwei Tiere an der Thyroxinvergiftung gestorben. Alle toten Tiere erscheinen weitgehend verkümmert und haben neben voll ausgebildeten, in Oberschenkel, Unterschenkel und Fußplatte mit Zehen differenzierten hinteren Extremitäten auch bereits durchgebrochene Vorderbeine. Bei

den Kontrollen sind diese dagegen noch wenig entwickelt und von der Körperwand umschlossen; nur bei einzelnen Tieren sind die hinteren Extremitäten schon vollständig ausdifferenziert. — 24. 6. Kontrollwägung. W.t. 19° C. In Gruppe 2 ein, in Gruppe 5 vier Tiere tot. Photographieren der Tiere in Ur-eithannarkose (Abb. 2 a—e). Anschließend Längenmessung und Fixierung nach Bouin zwecks späterer histologischer Untersuchung.

Tabelle 3

Gruppe	Beh.	15. 6.	18. 6.	20. 6.	22. 6	24. 6.
Gr. 1	Al + Tx	162 (20)	175 (16)	164 (16)	182 (16)	218 (16)
Gr. 2	Gl + Tx	160 (20)	157 (19)	109 (18)	98 (9)	90 (3)
Gr. 3	Hu + Tx	163 (20)	178 (12)	147 (12)	163 (12)	197 (12)
Gr. 4	Tx	160 (20)	153 (20)	108 (16)	93 (9)	93 (7)
Gr. 5	Tx	150 (20)	145 (18)	105 (13)	91 (8)	90 (2)
Gr. 6	Al	163 (20)	191 (14)	198 (14)	230 (14)	255 (14)
Gr. 7	Gl	159 (20)	189 (17)	197 (17)	228 (17)	251 (17)
Gr. 8	Ko	147 (20)	176 (19)	189 (19)	222 (19)	240 (19)
Gr. 9	Ko	156 (20)	179 (19)	196 (19)	234 (19)	263 (19)
Gr. 10	Hu	154 (20)	182 (16)	195 (16)	230 (16)	261 (16)

Durchschnittsgewicht eines Tieres der betreffenden Gruppe in Milligramm. Zahl der gewogenen Tiere in Klammer

Tabelle 4

Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr. 9	Gr. 10
29,7	22,0	29,6	21,4	22,5	32,0	31,6	31,8	31,9	32,4

Durchschnittliche Gesamtlänge in den einzelnen Gruppen am Ende des Versuchs in mm (Ausgangslänge aller Tiere: 27 mm)

Tabelle 5

Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr. 9	Gr. 10
7,48	7,49	7,40	7,40	7,43	7,41	7,46	7,39	7,42	7,45
7,49	7,49	7,40	7,59	7,53	7,46	7,60	7,58	7,57	7,47

pH-Wert des Lebewassers. Die erste Messung (obere Reihe) erfolgte unmittelbar nach der Zugabe der Teststoffe am 2. Versuchstag. Die zweite Messung (untere Reihe) wurde kurz vor dem Wasserwechsel am 3. Versuchstag vorgenommen

Besprechung der Ergebnisse von Versuch 2:

(Tab. 3—5, Abb. 2 a—e):

Entsprechend der etwas höheren Wassertemperatur setzte die Thyroxinwirkung noch stürmischer ein als in Versuch 1, was in einem steileren Abfall der betreffenden Gewichtskurven (Tab. 3), vor allem zwischen 4. und 6. Tag, zum Ausdruck kam. Bis zum 10. Tag ist die Mehrzahl der Thyroxintiere (s. Abb. 2 b) unter den Anzeichen einer überstürzten Metamorphose zugrunde gegangen.

Die in Versuch 1 festgestellte antithyreoidale Wirkung von Rinder-serumalbumin konnte bei einer Dosierung von dreimal 400 mg bestätigt werden. Die Gewichtskurve der Gruppe 1 zeigt nur zwischen 4. und 6. Tag eine geringe Abnahme; ab 6. Tag steigt sie wieder kräftig an. Die Länge



Abb. 2 Versuch 2. — a) Gr. 9 (unbehandelte Kontrollen). — b) Gr. 4 (40 γ Thyroxin). — c) Gr. 1 (400 mg Rinderserumalbumin + 40 γ Thyroxin). — d) Gr. 3 (400 mg Humanalbumin + 40 γ Thyroxin). — e) Gr. 2 (400 mg γ -Globulin v. Rind + 40 γ Thyroxin).

der Tiere nahm während des Versuchs zu und sie behielten wie die unbehandelten Kontrolltiere ihre ursprüngliche Körperform (s. Abb. 2 c).

Die Tiere der Gruppe 3 (Thyroxin + Humanalbumin) (s. Abb. 2 d) zeigten im wesentlichen die gleiche Entwicklung wie die mit Thyroxin und Rinderserumalbumin behandelten. Nur die Gewichtsabnahme zwischen dem 4. und dem 6. Versuchstag fiel in Gruppe 3 etwas stärker aus.

γ -Globulin vom Rind zeigte auch in einer Dosierung von dreimal 400 mg keinerlei antithyreoidale Wirkung. Bis zum 10. Versuchstag sind 17 von 20 Tieren an der Thyroxinwirkung gestorben. Die Überlebenden glichen in Länge, Gewicht und Form völlig den Thyroxintieren (s. Abb. 2 e).

Im Verhalten der gleichbehandelten Gruppen herrschte weitgehende Übereinstimmung. Man vergleiche Gewicht und Längenmaße der beiden Thyroxingruppen und der beiden Kontrollgruppen. Eine alimentäre Wirkung der Eiweißstoffe fiel auch diesmal nicht auf. Die mit Rinderserumalbumin, Humanalbumin und γ -Globulin allein behandelten Tiere verhielten sich ganz wie die unbehandelten Kontrollen (s. Abb. 2 a).

Die am 2. und 3. Versuchstag vorgenommene Messung des pH-Wertes (s. Tab. 5) zeigt deutlich, daß die antithyreoidale Wirkung von Rinderserum- und Humanalbumin nicht auf einer Verschiebung der Wasserstoffionen-Konzentration des Lebewassers durch die Eiweißstoffe beruht. Die für die betreffenden Gruppen gefundenen Werte unterscheiden sich weder unmittelbar nach der Zugabe der Teststoffe noch nach eintägigem Stehen wesentlich von denen der anderen Gruppen.

Versuch 3

Fragestellung: Lassen sich die positiven Ergebnisse der letzten Versuche mit Rinderserum- und Humanalbumin bei zweimaliger Verabreichung von Thyroxin und Eiweißstoffen reproduzieren?

Anordnung: 6 Gruppen zu je 20 Tieren. Teststoffe und Thyroxin werden zweimal gegeben.

Dosierungsplan:

Gr. 1:	40 γ Thyroxin	(Tx)
„ 2:	400 mg Rinderserumalbumin + 40 γ Thyroxin	(Al + Tx)
„ 3:	400 mg Humanalbumin + 40 γ Thyroxin	(Hu + Tx)
„ 4:	unbehandelte Kontrollen	(Ko)
„ 5:	400 mg Rinderserumalbumin	(Al)
„ 6:	400 mg Humanalbumin	(Hu)

Versuchsverlauf:

22. 6. Wassertemperatur 20° C. Wägung, Fütterung und Zusatz der Teststoffe. — 23. 6. W.t. 20° C. Wasserwechsel und Fütterung. — Ebenso am 24. 6. — 25. 6. 1. Kontrollwägung. W.t. 20° C. Es sind einige Tiere tot: in Gruppe 2 eines, in Gruppe 1 zwei, in Gruppe 5 drei, in Gruppe 6 vier und in Gruppe 3 elf. Wasserwechsel und Fütterung. — 27. 6. 2. Kontrollwägung. W.t. 20° C. In Gruppe 1 sind fünf Tiere tot. In Gruppe 2 und 4 je eines. Die Thyroxintiere zeigen deutliche Geigenform und sind gegenüber den Kontrollen stark verkleinert. Auch die Tiere der Gruppe 3 (Thyroxin + Humanalbumin) erscheinen etwas verkleinert, während die der Gruppe 2 von den unbehandelten Kontrollen nicht zu unterscheiden sind. Wasserwechsel und Fütterung. — 28. 6. W.t. 19° C. In Gruppe 5 und 6 ist je ein Tier tot. Auch in der Gruppe 1 sind fünf Tiere gestorben. Sie zeigen, ebenso wie die überlebenden acht Thyroxintiere, alle durchgebrochene Vorderbeine. — 29. 6. W.t. 20° C. Wasserwechsel und Fütterung. — 30. 6. W.t. 20° C. 3. Kontrollwägung. In der Thyroxingruppe sind alle Tiere tot. Die Leichen zeigen eine weit fortgeschrittene Metamorphose: Vorder- und Hinterbeine sind voll ausentwickelt und die Ruderschwänze sind stark reduziert. In Gruppe 6 sind zwei, in Gruppe 4 vier Tiere tot. Wasserwechsel und Fütterung. — 2. 7. W.t. 20° C. Wasserwechsel und Fütterung. — 4. 7. 4. Kontrollwägung. W.t. 19° C. Nach der Wägung werden die Tiere in Urethanarkose fotografiert (s. Abb. 3 a—c), gemessen und nach Bouin fixiert.

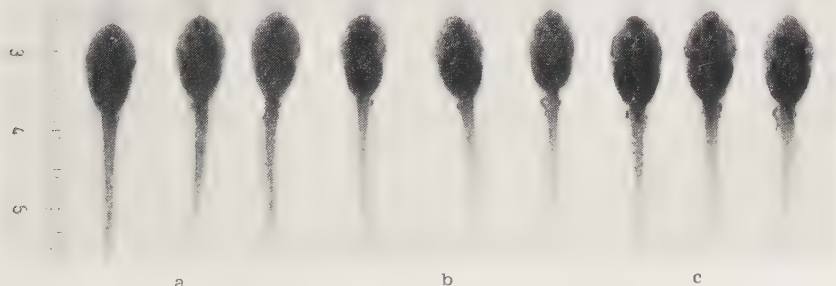


Abb. 3. Versuch 3. — a) Gr. 2 (400 mg Rinderserumalbumin + 40 γ Thyroxin). — b) Gr. 3 (400 mg Humanalbumin + 40 γ Thyroxin). — c) Gr. 4 (unbehandelte Kontrollen).

Tabelle 6

Gruppe	Beh.	22. 6.	25. 6.	27. 6.	30. 6.	4. 7.
Gr. 1	Tx	160 (20)	143 (18)	117 (13)	—	—
Gr. 2	Al + Tx	159 (20)	164 (19)	170 (18)	189 (18)	207 (18)
Gr. 3	Hu + Tx	162 (20)	140 (9)	151 (9)	163 (9)	191 (9)
Gr. 4	Ko	164 (20)	185 (20)	199 (19)	214 (15)	228 (15)
Gr. 5	Al	160 (20)	176 (17)	189 (17)	206 (16)	225 (16)
Gr. 6	Hu	160 (20)	169 (16)	178 (16)	196 (13)	218 (13)

Durchschnittsgewicht eines Tieres der betreffenden Gruppe in Milligramm.
Zahl der gewogenen Tiere in Klammer

Tabelle 7

Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6
—	29,0	27,5	29,6	29,6	29,1

Durchschnittliche Gesamtlänge in den einzelnen Gruppen am Ende des Versuchs in mm (Ausgangslänge aller Tiere: 26,0 mm)

Besprechung der Ergebnisse von Versuch 3:

(Tab. 6, 7, Abb. 3 a—c):

Obwohl in diesem Versuch Thyroxin und Teststoffe nur zweimal gegeben wurden, war die Thyroxinwirkung so stark, daß bis zum 9. Versuchstag alle Tiere der Gruppe 1 unter Metamorphoseerscheinungen zugrunde gegangen waren. Da die toten Tiere bereits stärkere postmortale Veränderungen aufwiesen, wurde auf ein Photographieren verzichtet. Die übrigen Gruppen wurden bis zum 13. Tag weiter beobachtet.

In Gruppe 2 trat eine nahezu vollständige Aufhebung der Thyroxinwirkung durch die gleichzeitige Gabe von 400 mg Rinderserumalbumin ein (s. Abb. 3 a). Die Tiere glichen am Ende des Versuchs in Gestalt und Länge ganz den unbehandelten Kontrollen (s. Abb. 3 c). Auch in ihrem Verhalten während der Versuchsdauer herrschte, wie die Gewichtstabelle zeigt, weitgehende Übereinstimmung zwischen Gruppe 2 und 4.

Auch in Gruppe 3 (Thyroxin + Humanalbumin) trat eine deutliche Hemmung der Thyroxinwirkung ein (s. Abb. 3 b). Zwar verloren die Tiere in den ersten vier Versuchstagen etwas an Gewicht, sie erholten sich aber rasch wieder und nahmen dann bis zum Versuchsende kontinuierlich zu. Bei der abschließenden Längenmessung waren sie nur wenig kürzer als die unbehandelten Kontrollen und die Tiere der Gruppe 2 (Thyroxin + Rinderserumalbumin). In Körperform und Entwicklungszustand unterschieden sie sich nicht von den Kontrolltieren.

Eine alimentäre Wirkung der Eiweißstoffe machte sich auch in diesem Versuch nicht bemerkbar.

Versuch 4

Fragestellung: Läßt sich die Thyroxinwirkung auch durch eine vor- oder nachherige Behandlung mit Rinderserumalbumin beeinflussen?

Anordnung: 5 Gruppen zu je 20 Tieren. Thyroxin und Teststoff werden zweimal gegeben. Die Einzeldosis beträgt wieder bei Thyroxin 40 γ , bei Rinderserumalbumin 400 mg.

Dosierungsplan:

Gruppe	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
Gr. 1	unbehandelte Kontrollen			
Gr. 2	—	Tx	Tx	—
Gr. 3	—	Tx + Al	Tx + Al	—
Gr. 4	Al	Tx	Tx	—
Gr. 5	—	Tx	Tx	Al

Es bedeuten: Tx = 40 γ Thyroxin

Al = 400 mg Rinderserumalbumin

Versuchsverlauf:

4. 7. Bestimmung des Ausgangsgewichtes. Fütterung. — 5. 7. Wassertemperatur 18° C. Wasserwechsel, Fütterung. Teststoffzusatz nach Dosierungsplan. — Ebenso am 6. 7. und 7. 7. — 8. 7. W.t. 19° C. In Gruppe 5 sind zwei, in Gruppe 3 drei Tiere tot. Wasserwechsel, Fütterung. Teststoffzusatz nach Dosierungsplan. — 9. 7. 1. Kontrollwägung. W.t. 17° C. In Gruppe 5 sind zwei Tiere tot. Wasserwechsel und Fütterung. — 11. 7. 2. Kontrollwägung. W.t. 19° C. In Gruppe 2 und 3 ist je ein Tier tot. — 12. 7. W.t. 19° C. Es sind tot: in Gruppe 5 drei Tiere, in Gruppe 2 und 4 je ein Tier. Bei den Thyroxintieren (Gruppe 2) und den mit Albumin vor- und nachbehandelten Tieren (Gruppe 4 und 5) ist jetzt eine mehr oder weniger starke geigenartige Verformung des Körpers eingetreten; sie sind kleiner als die unbehandelten Kontrollen. In Gruppe 3 (Thyroxin und Albumin gleichzeitig) sind derartige Veränderungen nicht zu beobachten. — 13. 7. 3. Kontrollwägung. W.t. 20° C. Wasserwechsel und Fütterung. — 15. 7. 4. Kontrollwägung. W.t. 19° C. In Gruppe 4 ist ein Tier tot. Anschließend an die Wägung Photographieren der Tiere in Urethannarkose (s. Abb. 4 a—e), danach Längenmessung und Fixierung nach *Bouin*.

Tabelle 8

Gruppe	Beh.	4. 7.	9. 7.	11. 7.	13. 7.	15. 7.
Gr. 1	Ko	164 (20)	202 (20)	214 (20)	244 (20)	268 (20)
Gr. 2	Tx	163 (20)	171 (20)	145 (19)	133 (18)	124 (18)
Gr. 3	Al + Tx	159 (20)	189 (17)	190 (16)	201 (16)	224 (16)
Gr. 4	Al + Tx (vor)	159 (20)	170 (20)	149 (20)	140 (19)	143 (18)
Gr. 5.	Al + Tx (nach)	159 (20)	168 (16)	142 (16)	123 (13)	121 (13)

Durchschnittsgewicht eines Tieres der betreffenden Gruppe in Milligramm.
Zahl der gewogenen Tiere in Klammer

Tabelle 9

Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5
31,9	24,2	30,8	25,7	24,0

Durchschnittliche Gesamtlänge in den einzelnen Gruppen am Ende des Versuchs in mm (Ausgangslänge aller Tiere: 28,0 mm)

Besprechung der Ergebnisse von Versuch 4:

(Tab. 8, 9, Abb. 4 a—e):

Um ein zu rasches Absterben der Thyroxintiere zu verhindern, wurde die Wassertemperatur um durchschnittlich 2°C niedriger gehalten als in Versuch 3. Die Thyroxinwirkung kam dadurch etwas schwächer zur Geltung, so daß im Verlaufe des Versuchs in Gruppe 2 nur zwei Tiere gestorben sind. Die typischen Veränderungen von Gewicht, Länge und Körperform entsprachen ganz den Erfahrungen der vorherigen Versuche.

Bei den mit Thyroxin und Rinderserumalbumin gleichzeitig behandelten Tieren (Gruppe 3, s. Abb. 4 a) trat erwartungsgemäß wieder eine deutliche Hemmung der Thyroxinwirkung ein. Die Tiere nahmen gleich den unbehandelten Kontrollen während der ganzen Versuchsdauer an Gewicht und Länge zu und unterschieden sich am Ende des Versuchs in Gestalt und Entwicklungszustand in keiner Weise von diesen (s. Abb. 4 b). Die mit 1×400 mg Rinderserumalbumin nachbehandelten Tiere (Gruppe 5, s. Abb. 4 d) zeigten keinerlei Beeinträchtigung der Thyroxinwirkung; sie verhielten sich genau wie die Thyroxintiere (s. Abb. 4 c).



Abb. 4. Versuch 4. — a) Gr. 3 (400 mg Rinderserumalbumin + 40γ Thyroxin). — b) Gr. 1 (unbehandelte Kontrollen). — c) Gr. 2 (40γ Thyroxin). — d. Gr. 5 (erst 40γ Thyroxin, dann 400 mg Rinderserumalbumin). — e) Gr. 4 (erst 400 mg Rinderserumalbumin, dann 40γ Thyroxin). In Gruppe 4 (e) wurden wegen des erheblichen Entwicklungsunterschiedes die drei größten und die drei kleinsten Tiere wiedergegeben.

Auch die Tiere der Gruppe 4, die vor der Behandlung mit Thyroxin 1×400 mg Rinderserumalbumin erhalten hatten, glichen zunächst in ihrem Verhalten ganz den Thyroxintieren. Erst vom 9. Tage an trat bei ihnen wieder ein leichter Gewichtsanstieg ein.

Bei Versuchsende zeigten diese Tiere untereinander einen beachtlichen Unterschied in ihrem Entwicklungszustand (s. Abb. 4 e): Während die größten Tiere der Gruppe nur wenig kleiner erschienen als die unbehandelten Kontrollen, zeigten die am weitesten entwickelten die gleichen Metamorphoseerscheinungen wie die Thyroxintiere. Es wurden daher sowohl die drei größten als auch die drei kleinsten Tiere photographiert. Die übrigen 10 Tiere zeigten alle möglichen Zwischenstufen zwischen den beiden Extremen. Die Durchschnittslänge in der Gruppe 4 lag bei Versuchsende nur wenig über der der Thyroxingruppe. Jedenfalls konnte weder bei der Vorbehandlung der Tiere mit Albumin noch bei der Verabreichung von Albumin nach der Thyroxineinwirkung von einer eindeutigen Hemmung der Thyroxinwirkung die Rede sein.

Es darf jedoch aus diesem einen Versuchsergebnis noch nicht gefolgert werden, daß Albumin nur bei gleichzeitiger Verabreichung mit Thyroxin dessen Wirkung zu hemmen vermag. Es wäre immerhin denkbar, daß sich bei einer höheren Dosierung von Albumin oder einer niedrigeren von Thyroxin auch bei getrennter Gabe ein antithyreoidaler Effekt erzielen läßt. Leider war es nicht mehr möglich, weitere Versuche in dieser Richtung anzustellen, da die zur Verfügung stehenden Tiere inzwischen in ihrer natürlichen Entwicklung so weit fortgeschritten waren, daß sie für Metamorphoseversuche nicht mehr geeignet erschienen.

Besprechung der Gesamtergebnisse

Aus den Versuchen geht hervor, daß es möglich ist, die durch eine zwei- oder dreimalige Gabe von 40γ Thyroxin an *Rana temporaria*-Larven auftretenden charakteristischen Veränderungen durch die gleichzeitige Verabreichung von 400 mg Rinderserum- oder Humanalbumin weitgehend zu unterdrücken. Rinderserumalbumin scheint dabei noch etwas wirksamer zu sein als Humanalbumin. Durch eine gleichzeitige Gabe von 400 mg γ -Globulin vom Rind wird die Wirkung von 40γ Thyroxin nicht beeinflußt.

Nach Blum¹⁰ sind 5 ccm Frischblut in der Lage, im Kaulquappenversuch die Wirkung von 10γ Thyroxin zu neutralisieren. Unter Voraussetzung eines konstanten Wirkungsverhältnisses wären also zum Ausgleich von 40γ Thyroxin 20 ccm Blut erforderlich. Berücksichtigt man nun, daß in den eben beschriebenen Versuchen bereits 400 mg Albumin, also eine Menge, die dem Albumingehalt von etwa 9 ccm Frischblut entspricht, die Wirkung von 40γ Thyroxin weitgehend ausgleichen konnten, so erscheint es als wahrscheinlich, daß dem Serumalbumin ein wesentlicher Anteil an der antithyreoidalen Schutzkraft des Blutes zukommt. Daß es deren alleiniger Träger ist, ist jedoch angesichts der Ergebnisse

der Versuche von *Gefner*¹⁸ nicht anzunehmen. *Romeis*³⁹ hat bereits 1923 darauf hingewiesen, daß die antithyreoidale Schutzwirkung des Blutes entweder in einer Bindung oder in einer Zerstörung der Thyroxinmoleküle bestehen muß. Inzwischen haben *Salter*⁴³, *Taurog* und *Chaikoff*^{49, 50} sowie *Laidlaw*²⁴ durch Versuche mit radioaktivem Jod nachgewiesen, daß das im strömenden Blut vorhandene Thyroxin locker an die Albumin- und α -Globulinfraction des Serums gebunden ist. Das Serumalbumin erwies sich dabei als der Hauptträger des im Blute vorhandenen protein-gebundenen Jods, also des Thyroxins. Nach *Salter* befinden sich etwa 75 % des proteingebundenen Jods in der Albuminfraction. Die α -Globulinfraction besitzt zwar eine noch stärkere Affinität zum Thyroxin, soll aber wegen ihrer geringeren Menge als Thyroxinträger erst in zweiter Linie in Betracht kommen. Die β -Globulinfraction enthält nur wenig protein-gebundenes Jod, während das γ -Globulin in dieser Hinsicht überhaupt keine Rolle zu spielen scheint.

Neuere Untersuchungen allerdings, vor allem die Versuche von *Petermann* u. Mitarb.^{33, 34, 35}, *Larson* u. Mitarb.²⁵ sowie *Robbins* und *Rall*³⁷ haben gezeigt, daß der Hauptteil des normalerweise im strömenden Blut vorhandenen Thyroxins bei der Elektrophorese in der α -Globulinfraction erscheint, und zwar — nach *Horst* und *Roesler*²³ — in einer Zone geringer Eiweißkonzentration zwischen α_1 - und α_2 -Globulinen. In der amerikanischen Literatur wird diese Fraktion als „thyroxin-binding-globulin“ bezeichnet. Nach *Deiss* u. Mitarb.¹³ sind die davon abweichenden früheren Ergebnisse von *Taurog* und *Chaikoff*, die den Hauptthyroxinträger im Albumin fanden, auf Verunreinigung des verwendeten Albumins mit α -Globulin zurückzuführen.

Diese Erkenntnisse beziehen sich, wie bereits gesagt, auf das normalerweise im strömenden Blut vorhandene Thyroxin. Daß jedoch dessen ungeachtet auch das Albumin die Fähigkeit besitzt, zumindest *in vitro* Thyroxin zu binden, zeigen die Ergebnisse von *Lein*²⁶, der durch Dialyseversuche das Bindungsvermögen von Rinderserumalbumin gegenüber Thyroxin bestätigen konnte. Auch die Ergebnisse von *Albright* und *Deiss*^{1, 2} sind in dieser Hinsicht recht aufschlußreich: Gibt man nämlich *in vitro* radioaktiv markiertes Thyroxin zum Serum, so erscheint bei anschließender Papierelektrophorese zunächst die gesamte Radioaktivität in der „thyroxin-binding-globulin“-Fraktion. Steigert man nun die Thyroxinmenge, so wächst die Radioaktivität in dieser Fraktion bis zu einem gewissen Grenzwert: alles darüber hinaus gegebene Thyroxin erscheint in der Albuminfraction. Das thyroxinbindende Globulin reißt also infolge seiner größeren Affinität das zugegebene Thyroxin an sich, und erst wenn seine Bindungsfähigkeit abgesättigt ist, kann das zusätzlich gegebene Thyroxin vom Albumin gebunden werden.

Im Hinblick auf diese Erkenntnisse liegt es nahe, als Ursache für die antithyreoidale Wirksamkeit von Rinderserum- und Humanalbumin im Kaulquappenversuch eine Bindung der Thyroxinmoleküle an das Albumin anzunehmen. Angesichts des hohen Reinheitsgrades des ver-

wendeten Albumins ist eine merkliche Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse durch Beimengung von α -Globulin nicht anzunehmen. Auch der negative Ausfall der Versuche mit γ -Globulin ist wegen dessen geringer Affinität zum Thyroxin verständlich.

Auf Grund dieser Deutung der Versuchsergebnisse wäre für α -Globulin eine sehr starke, für β -Globulin dagegen keine oder nur eine sehr schwache antithyreoidale Wirksamkeit zu erwarten. Leider standen die beiden Substanzen nicht in genügender Menge zur Verfügung, so daß bisher in dieser Richtung keine Versuche angestellt werden konnten.

Herrn Professor Dr. Benno Romeis möchte ich für den Arbeitsplatz im Institut und die stets gewährte Unterstützung meinen ergebensten Dank aussprechen. Herrn Priv.-Doz. Dr. Rudolf Wetzstein danke ich für die Überlassung des Themas und seine freundliche Hilfsbereitschaft.

Zusammenfassung

1. Es wurden Rinderserumalbumin, Humanalbumin und γ -Globulin vom Rind im Kaulquappenversuch auf ihre antithyreoidale Wirksamkeit geprüft.
2. Nach einer zwei- oder dreimaligen Gabe von 40 γ Thyroxin traten bei den Versuchstieren innerhalb von 10 Tagen starke Metamorphoseerscheinungen auf, bestehend in einem massiven und anhaltenden Gewichtssturz, Resorption des Ruderschwanzes und den charakteristischen Veränderungen der Körperform im Sinne einer Entwicklungsbeschleunigung.
3. Durch die gleichzeitige Gabe von 400 mg Rinderserumalbumin oder Humanalbumin konnte die Thyroxinwirkung weitgehend unterdrückt werden. Rinderserumalbumin erwies sich dabei als etwas stärker wirksam als Humanalbumin.
4. Durch eine gleichzeitige Gabe von 400 mg γ -Globulin vom Rind wurde die Thyroxinwirkung nicht abgeschwächt.
5. Bei getrennter Verabreichung von Thyroxin und Rinderserumalbumin konnte keine sichere Hemmung der Thyroxinwirkung beobachtet werden.
6. Die antithyreoidale Wirksamkeit von Rinderserumalbumin und Humanalbumin beruht nicht auf einer Verschiebung des pH-Wertes des Lebewassers der Tiere.
7. Eine nennenswerte alimentäre Wirkung der Eiweißstoffe trat bei der gewählten Versuchsanordnung nicht auf.
8. Es erscheint als wahrscheinlich, daß dem Serumalbumin ein wesentlicher Anteil an der antithyreoidalen Schutzkraft des Blutes zukommt. Es dürfte jedoch nicht deren alleiniger Träger sein.
9. Es ist anzunehmen, daß die antithyreoidale Wirksamkeit von Rinderserumalbumin und Humanalbumin auf einer Bindung des Thyroxins an das Albumin beruht.

Summary / Résumé

The effect of 40 μ g thyroxin has been suppressed almost completely by the simultaneous application of 400 mg bovine or human serum albumin as shown in the tadpole test; bovine gamma globulin has no anti-thyroid effect. It is supposed that a substantial part of the anti-thyroid protective mechanism in the blood is due to albumin which binds thyroxin.

Dans les expériences sur les têtards, on a pu largement amoindrir l'action de la thyroxine 40 γ en ajoutant simultanément 400 mg d'albumine du sérum

de boeuf ou d'origine humaine: la globuline γ du boeuf n'a pas d'action antithyroïdale. On suppose que l'albumine du sérum joue un rôle important en ce qui concerne la protection antithyroïdale du sang et que cette action est causée par une combinaison avec la thyroxine.

Schrifttum

- 1 Albright, E. C., Larson, F. C. u. W. P. Deiss, J. Clin. Invest. **33** (1954): 914 — 2 dies., J. Clin. Invest. **34** (1955): 44 — 3 Anselmino, K. J. u. F. Hoffmann, Klin. Wschr. **14** (1935): 100 — 4 Baumann, E., Münch. med. Wschr. **81** (1934): 57 — 5 Blum, F., Verh. 23. Dtsch. Kongr. inn. Med. (1906): 183 — 6 ders., Dtsch. med. Wschr. **58** (1932): 1874 — 7 ders. (zit. nach Bomskow), Schweiz. med. Wschr. **63** (1933): 777 — 8 ders., Mitt. Grenzgeb. Med. Chir. **41** (1929): 569 — 9 ders. (zit. nach Gefner 18), Dtsch. med. Wschr. **50** (1924): 785 — Studien über Epithelkörperchen usw. Jena 1925 — Pflügers Arch. Physiol. **208** (1925): 318 — Dtsch. med. Wschr. **52** (1926): 1539 — Dtsch. med. Wschr. **53** (1927): 1883 — Weitere Studien über die Epithelkörperchen. Jena 1927 — Zbl. inn. Med. **48** (1927): 914 — Dtsch. med. Wschr. **54** (1928): 1701 — Mitt. Grenzgeb. Med. Chir. **41** (1929): 569 — Dtsch. med. Wschr. **57** (1931): 213 — Endokrinologie, **8** (1931): 241 — 10 ders., Schweiz. med. Wschr. **66** (1933): 777 — 11 Bomskow, Chr., Methodik der Hormonforschung. Leipzig 1937 — 12 Collip, J. B., Selye, H. u. D. C. Thomson, Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. **15** (1940): 1 — 13 Deiss, W. P., Albright, E. C. u. F. C. Larson, J. Clin. Invest. **31** (1952): 1000 — 14 Eitel, H. u. A. Loeser, Klin. Wschr. **13** (1934): 1742 — 15 Eufinger, H. u. J. Gottlieb, Klin. Wschr. **12** (1933): 1397 — 16 Fellingner, K. (zit. nach Bomskow), Klin. Wschr. **14** (1935): 1250 — 17 Gefner, O., Arch. exper. Path. **113** (1926): 237 — 18 ders., Zschr. exper. Med. **82** (1932): 357 — 19 Giacomini, E., Monit. zool. ital. **40** (1929): 434 — 20 Gnann, G. u. W. Spiegelhoff, Zschr. Vitaminforschg. **2** (1929): 609 — 21 Gürber, A. u. O. Gefner, Arch. exper. Path. Pharmak. **129** (1928): 370 — 22 Herzfeld, E., Schweiz. med. Wschr. **63** (1933): 781 — 23 Horst, W. u. H. Rösler, Klin. Wschr. **31** (1953): 13 — 24 Laidlaw, J. C., Nature **164** (1949): 927 — 25 Larson, F. C., Deiss, W. P. u. E. C. Albright, J. Clin. Invest. **33** (1954): 230 — 26 Lein, A., Federation Proceedings **11** (1952): 91 — 27 Levit, S., Berljand, N. u. I. Ryvkin, Zschr. exper. Med. **71** (1930): 506 — 28 Loeffler, H., Münch. med. Wschr. **42** (1953): 1131 — 29 Loeser, A., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. **184** (1936): 25 — 30 Neidhardt, K. u. M. Schröck, Zschr. klin. Med. **128** (1935): 417 — 31 Nossen, H., Med. Klin. **31** (1935): 43 — 32 Oberdisse, K. u. S. Thaddea, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. **165** (1932): 538 — 33 Petermann, M. L., Robbins, J. u. M. G. Hamilton, J. Biol. Chem. **208** (1954): 369 — 34 dies., J. Biol. Chem. **208** (1954): 377 — 35 dies., J. Biol. Chem. **208** (1954): 387 — 36 Riedl, L., Čas. Léč. Česk. **30** (1935) — 37 Robbins, J. u. J. E. Rall, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **81** (1952): 530 — 38 Romeis, B., Zschr. exper. Med. **5** (1916): 120 — 39 ders., Biochem. Z. **141** (1923): 400 — 40 ders., Endokrinologie **18** (1936): 10 — 41 Saegesser, M., Klin. Wschr. **12** (1933): 672 — 42 Sainton, P. u. H. Simonnet (zit. nach Trendelenburg), Ann. dermat. syph. **7** (1930): 1257 — 43 Salter, W. T., West. J. Surg. **55** (1947): 15 — 44 Schneider, E. u. E. Widmann, Dtsch. Zschr. Chir. **244** (1935): 639 — 45 Senkbach, M., Dtsch. med. Wschr. **58** (1932): 12 — 46 Simon, E., Arch. exper. Path. Pharmak. **180** (1935): 28 — 47 Sonne, C. (zit. nach Bomskow), Zschr. klin. Med. **80** (1914): 229 — 48 Starlinger, F., Med. Klin. **31** (1935): 1324 — 49 Taurog, A. u. I. L. Chaikoff, J. Biol. Chem. **176** (1948): 639 — 50 dies., J. Biol. Chem. **184** (1950): 99 — 51 Thompson, K. W., Physiol. Rev. **21** (1941): 588 — 52 Trendelenburg, P., Die Hormone. Berlin 1929 — 53 Wittgenstein, A. (zit. nach Bomskow), Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. **171** (1933): 46 — 54 Zondek, H. u. T. Reiter (zit. nach Gefner 18), Klin. Wschr. **2** (1923): 1344

Lebenslauf

Am 21. März 1930 wurde ich, Rudolf Mayer, als Sohn des Spirituosenherstellers Josef Mayer in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule an der Simmernstraße in München trat ich in das Maximiliansgymnasium ein, an dem ich im Sommer 1950 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1950/51 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Medizinstudium. Nach einer Studienzeit von elf Semestern legte ich dort im Sommer 1956 das medizinische Staatsexamen ab.

Seither war ich am Institut für Histologie und experimentelle Biologie der Universität München und an der Privatklinik Herrsching am Ammersee als Medizinalassistent tätig.

